



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ  
ÚSTAV PROCESNÍHO A EKOLOGICKÉHO  
INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING  
INSTITUTE OF PROCESS AND ENVIRONMENTAL  
ENGINEERING

## VÝROBA KAPALNÝCH BIOPALIV S VYUŽITÍM ENZYMATICKÉ HYDROLÝZY ODPADNÍHO PAPÍRU

PRODUCTION OF LIQUID BIOFUELS BY USING ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WASTE PAPER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

MARTIN ROŠTEK

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. VLADIMÍR BRUMMER

BRNO 2015

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav procesního a ekologického inženýrství

Akademický rok: 2014/2015

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

student(ka): Martin Rošek

který/která studuje v **bakalářském studijním programu**

obor: **Základy strojního inženýrství (2341R006)**

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

### **Výroba kapalných biopaliv s využitím enzymatické hydrolýzy odpadního papíru**

v anglickém jazyce:

#### **Production of liquid biofuels by using enzymatic hydrolysis of waste paper**

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Pro výrobu etanolu jako paliva je nutno hledat levnou a na primární zemědělské produkci relativně nezávislou výchozí surovinu. To obrací pozornost výzkumu k lignocelulóзовým materiálům, jako surovině pro hydrolytickou produkci fermentovatelných sacharidů. Z různých doposud používaných metod hydrolýzy se jako jedna z perspektivnějších jeví enzymatická hydrolýza. Je nutné se zaměřit na nejmodernější metody snižující technologické časy a zvyšující výtěžky redukcí sacharidů a etanolu, např. SSF (simultánní sacharifikace a fermentace) a mechanické, chemické případně biochemické předúpravy vstupního materiálu. Již v dnešní době se přimíchává do motorového benzínu biosložka – bioetanol a jeho podíl se bude podle nařízení EU časem zvyšovat. Výroba biosložky z odpadních surovin je proto značně důležitá i pro diversifikaci zdrojů kapalných biopaliv.

Důležitá poznámka:

Veškeré další informace a upřesnění údajů včetně grafických interpretací naleznete na webových stránkách

<http://www.upei.fme.vutbr.cz/studium/temata-bakalarskych-praci-2014-2015>

nebo přímo u garanta zadání, který Vám vše rád osobně vysvětlí.

Cíle bakalářské práce:

- 1.Přehled metod hydrolýzy lignocelulóзовých materiálů pro fermentační technologie, hlavní zaměření bude na enzymatickou hydrolýzu.
- 2.Zdroje lignocelulóзовé suroviny, zhodnocení jejich využitelnosti pro fermentační technologie.
- 3.Shrnutí nových poznatků v zpracování odpadního papíru enzymatickou hydrolýzou a fermentací produktu hydrolýzy na etanol.
- 4.Student se pokusí dohledat nově vzniklé provozní, nebo poloprovozní realizace enzymatické hydrolýzy lignocelulóзовých materiálů s fermentací vzniklého produktu.

5. Zhodnocení rešeršně získaných poznatků.

Seznam odborné literatury:

Pastorek, Z., Kára, J., Jevič, P. Biomasa : obnovitelný zdroj energie. Praha : FCC Public, 2004. 288 s. ISBN 80-86534-06-5.

Šulák, M., Šmogrovičová, D. Bioetanol : současné trendy vo výskume a v praxi. Chem.

Listy [online]. 2008, č. 102 [cit. 2008-02-18], s. 108-115. Dostupný z WWW:

<[http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008\\_02\\_108-115.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_02_108-115.pdf)>.

BRUMMER, Vladimír, Tomas JURENA, Viliam HLAVACEK, Jirina OMELKOVA, Ladislav BEBAR, Petr GABRIEL a Petr STEHLIK. Enzymatic hydrolysis of pretreated waste paper – Source of raw material for production of liquid biofuels. Bioresource Technology. 2014, vol. 152, s. 543-547. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.11.030. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096085241301746X>

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Vladimír Brummer

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2014/2015.

V Brně, dne 10.11.2014

L.S.

---

prof. Ing. Petr Stehlík, CSc., dr. h. c.  
Ředitel ústavu

---

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Táto bakalárska práca sa zaoberá rešeršným zhrnutím aktuálnych poznatkov o procese enzymatickej hydrolýzy, s využitím odpadového papiera ako suroviny, za cieľom jeho konverzie na kvapalné biopalivo.

V rámci práce sú zhrnuté všeobecné poznatky o lignocelulóзовých surovinách a ich zdrojoch, prehľad dostupných metód hydrolýzy pre dané materiály a fermentačné technológie, a tiež sumarizácia súčasne využívaných metód zefektívňujúcich proces enzymatickej hydrolýzy. V ďalšej časti práce sa nachádza prehľad komerčných realizácií enzymatickej hydrolýzy lignocelulóзовých materiálov.

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis focuses on the retrieval summary of current knowledge about the process of enzymatic hydrolysis with utilization of waste paper as raw material, in order to convert it into liquid biofuels.

The thesis summarizes the general knowledge of the lignocellulosic raw materials and their resources, an overview of available hydrolysis methods for materials and fermentation technologies, and also summary of methods currently used to rise enzymatic hydrolysis process effectivity. The next section provides an overview of commercial plants which use enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials.

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

Enzymatická hydrolýza, odpadový papier, biopalivo, celulóza, celuláza

## **KEYWORDS**

Enzymatic hydrolysis, waste paper, biofuel, cellulose, cellulase

## **BIBLIOGRAFICKÁ CITÁCIA**

ROŠTEK, M. *Výroba kapalných biopaliv s využitím enzymatické hydrolýzy odpadního papíru*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2015. 43 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Vladimír Brummer.

## **PREHLÁSENIE**

Prehlasujem, že som bakalársku prácu na tému Výroba kvapalných biopalív s využitím enzymatickej hydrolýzy odpadového papiera vypracoval samostatne pod vedením Ing. Vladimíra Brummera a uviedol som v zozname literatúry všetky použité literárne a odborné zdroje.

V Brne dňa 9. 6. 2015

.....  
Martin Rošek

## **POĎAKOVANIE**

Rád by som sa poďakoval vedúcemu práce, pánovi Ing. Vladimírovi Brummerovi za jeho odbornú pomoc a čas, ktorý mi v súvislosti s vypracovaním tejto práce venoval. Poďakovanie patrí aj pánovi prof. Ing. Petrovi Stehlíkovi, CSc., dr. h. c., za jeho ústretový prístup.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>DEFINÍCIA A VYMEDZENIE POJMOV .....</b>	<b>12</b>
2.1	BIOMASA.....	12
2.2	LIGNOCELULÓZA .....	12
2.3	LIGNÍN .....	12
2.4	HEMICELULÓZA.....	12
2.5	CELULÓZA.....	12
2.6	HYDROLÝZA.....	12
2.7	FERMENTÁCIA .....	12
2.8	ENZÝMY.....	13
2.9	BIOPALIVO .....	13
2.10	BIOETANOL .....	13
<b>3</b>	<b>ZDROJE LIGNOCELULÓZOVEJ SUROVINY A ICH VYUŽITIE PRI VÝROBE OBNOVITEĽNÝCH KVAPALNÝCH BIOPALÍV .....</b>	<b>14</b>
3.1	LIGNOCELULÓZOVÉ MATERIÁLY A ICH ZLOŽENIE .....	14
3.2	ODPADOVÝ PAPIER AKO SUROVINA NA VÝROBU KVAPALNÝCH BIOPALÍV .....	15
3.3	ZÁKLADNÉ ROZDELENIE BIOPALÍV.....	16
<b>4</b>	<b>PREHĽAD METÓD HYDROLÝZY LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLOV PRE FERMENTAČNÉ TECHNOLOGIE .....</b>	<b>18</b>
4.1	CHEMICKÁ HYDROLÝZA.....	18
4.1.1	<i>Hydrolýza koncentrovanými kyselinami.....</i>	<i>19</i>
4.1.2	<i>Hydrolýza zriedenými kyselinami .....</i>	<i>19</i>
4.1.3	<i>Hydrolýza ionickými kvapalinami .....</i>	<i>19</i>
4.2	ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA.....	20
4.2.1	<i>Enzymatická hydrolýza celulózy.....</i>	<i>21</i>
4.2.2	<i>Enzymatická hydrolýza hemicelulózy.....</i>	<i>22</i>
<b>5</b>	<b>SÚČASNÝ STAV POZNATKOV V SPRACOVANÍ ODPADOVÉHO PAPIERA ENZYMATICOU HYDROLÝZOU A FERMENTÁCIE PRODUKTU HYDROLÝZY NA ETANOL .</b>	<b>23</b>
5.1	PREDÚPRAVA LIGNOCELULÓZOVÉHO MATERIÁLU .....	23
5.1.1	<i>Fyzikálne metódy predúpravy .....</i>	<i>24</i>
5.1.2	<i>Chemické metódy predúpravy .....</i>	<i>24</i>
5.1.3	<i>Fyzikálno-chemické metódy predúpravy.....</i>	<i>25</i>
5.1.4	<i>Biologické metódy predúpravy.....</i>	<i>26</i>
5.2	DEMINERALIZÁCIA ODPADOVÉHO PAPIERA .....	26
5.3	METÓDA S VYSOKÝM DÁVKOVANÍM SUBSTRÁTU .....	28
5.4	SIMULTÁNNÁ SACHARIFIKÁCIA A FERMENTÁCIA (SSF) .....	29
5.5	METÓDA CBP .....	29
5.6	VYUŽITIE TERMOFILNÝCH MIKROORGANIZMOV .....	30
<b>6</b>	<b>KOMERČNÉ REALIZÁCIE ENZYMATICKEJ HYDROLÝZY LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLOV S FERMENTÁCIOU VZNIKUTÉHO PRODUKTU .....</b>	<b>31</b>

<b>7</b>	<b>DISKUSIA.....</b>	<b>33</b>
<b>8</b>	<b>ZÁVER.....</b>	<b>35</b>
<b>9</b>	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV.....</b>	<b>36</b>
<b>10</b>	<b>ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK.....</b>	<b>41</b>
<b>11</b>	<b>ZOZNAM OBRÁZKOV.....</b>	<b>42</b>
<b>12</b>	<b>ZOZNAM TABULIEK.....</b>	<b>43</b>

# 1 ÚVOD

Spolu s trendmi populačného rastu, rastúcou spotrebou energie a rýchlym poklesom zásob fosílnych palív, sa vynárajú otázky ohľadom možných prichádzajúcich problémov s uspokojením dopytu a zásobovaním palivami a energiami v spektre niekoľkých desiatok rokov. Práve v spojení s týmito obavami sa v poslednej dobe kladie dôraz na výskum nových zdrojov energie, akými sú napríklad aj obnoviteľné biopalivá [1].

V roku 2003 zaviedla Európska únia program podpory biopalív. Jeho cieľom bolo dosiahnutie 5,75 % podielu využitia obnoviteľných biopalív v dopravnom sektore do roku 2010. Tento trend má pokračovať a v roku 2020 má byť táto hodnota už 10 %. Následkom týchto predsavzatí je napríklad zavedenie povinného podielu biozložky v motorových palivách [2],[3].

Zo súčasnej produkcie biopalív sa približne 99 % zaraďuje do skupiny biopalív prvej generácie, ktoré sú vyrábané z plodín pestovaných za týmto účelom. Aj preto politika EÚ čelila vlnám kritiky, hlavne z nepriameho navádzania na zmeny využívania poľnohospodárskej pôdy, a z toho vyplývajúceho možného nárastu cien potravín [2],[4].

Práve tento fakt a ďalšie nevýhody spojené s biopalivami prvej generácie upriamujú pozornosť na palivá druhej generácie, ktoré sú produkované z lignocelulózovej suroviny. Jej zdrojom môžu byť inak nevyužiteľné zvyšky z poľnohospodárskej činnosti, alebo iné odpadové suroviny rastlinného pôvodu s obsahom lignocelulózy, ako napríklad odpadový papier [4].

S výrobou biopalív z lignocelulózových materiálov sa spája niekoľko preferovaných procesov. Jedným z nich je enzymatická hydrolýza, ktorej výhodami sú minimálne zaťaženie životného prostredia a malá energetická náročnosť, keďže proces prebieha za miernych podmienok. Náročná je ale optimalizácia procesu, ktorá je predmetom dlhodobého výskumu. Cieľom optimalizácie je nájdenie a používanie takých surovín, enzýmov a metód, aby sa dosiahlo čo najvyššieho výťažku, došlo ku skráteniu reakčného času, pri minimalizácii dávky enzýmov. Toho výsledkom má byť zníženie nákladov, na inak pomerne nákladný proces [5],[6],[7].

## **2 DEFINÍCIA A VYMEDZENIE POJMOV**

### **2.1 Biomasa**

Biomasa je substancia organického pôvodu, zámerne získaná ako hlavný produkt, alebo tiež odpad z poľnohospodárskej, potravinárskej, alebo lesnej výroby [1].

### **2.2 Lignocelulóza**

Lignocelulóza je hlavnou zložkou biomasy. Pozostáva z troch skupín polymérov, konkrétne celulózy, hemicelulózy a lignínu, ktorých pomer zastúpenia je značne premenlivý [8].

### **2.3 Lignín**

Lignín je komplexná štruktúra pozostávajúca z fenylových jednotiek. Lignín je úzko naviazaný na celulózu a hemicelulózu, jeho úlohou je zabezpečiť pevnosť a súdržnosť materiálu bunkovej steny a vytvoriť fyzikálno-chemickú bariéru, proti mikrobiálnemu napadnutiu. Vzhľadom k jeho molekulárnej stavbe, je lignín extrémne odolný voči chemickej a enzymatickej degradácii [8],[9].

### **2.4 Hemicelulóza**

Hemicelulóza je lineárny a rozvetvený heterogénny polymér, pozostávajúci z pentóz D-xylóza, L-arabínóza a hexóz D-manóza, D-glukóza, D-galaktóza [8],[9].

### **2.5 Celulóza**

Celulóza je lineárny polysacharidový polymér glukózy, tvorený z celobiózových jednotiek, ktoré sú pospájané  $\beta$ -1,4-glykozidovými väzbami [8].

### **2.6 Hydrolýza**

Hydrolýza je chemický proces, pri ktorom v prebytku vody a pôsobením vhodného katalyzátora dochádza k rozkladu substrátu na jeden alebo viacero nových produktov [10].

### **2.7 Fermentácia**

Fermentácia, alebo tiež kvasenie, je biotechnologický proces, pri ktorom, za účasti mikrobiálnych enzýmov, dochádza k postupnej chemickej premene organických látok, na nové produkty [11].

## **2.8 Enzýmy**

Enzýmy sú bielkoviny, ktorých základnou úlohou je katalyzovanie, teda urýchľovanie chemických reakcií a riadenie biochemických procesov v telách živých organizmov. Charakteristické je, že takto pôsobia bez toho, aby sa spotrebovali a zároveň nemenia chemickú rovnováhu medzi reaktantami a produktmi [12].

## **2.9 Biopalivo**

Biopalivo je palivo v pevnom, kvapalnom, alebo plynnom skupenstve, ktoré je vyrobené z biomasy. Jeho primárnym účelom je použitie v doprave. Za biopalivá považujeme napríklad bioetanol, bionaftu, bioplyn, biovodík, či rastlinný olej [13].

## **2.10 Bioetanol**

Bioetanol ( $C_2H_5OH$ ) je kvapalné biopalivo, produkované z biomasy, rôznymi konverznými technológiami. Bioetanol má v porovnaní s klasickým benzínom, vyššie oktánové číslo, vyššiu teplotu vznietenia a vyššiu teplotu odparovania. Tieto vlastnosti umožňujú použitie vyššieho kompresného pomeru a kratší čas zážihu. Nevýhodou je jeho nižšia energetická hodnota (66 % z energetickej hodnoty benzínu), korozívnosť, nízky tlak pár a miešateľnosť s vodou [14].

### 3 ZDROJE LIGNOCELULÓZOVEJ SUROVINY A ICH VYUŽITIE PRI VÝROBE OBNOVITELNÝCH KVAPALNÝCH BIOPALÍV

Zdrojom, z ktorého je možné vyrábať kvapalné biopalivá je napríklad biomasa [1]. Energeticky využiteľnú biomasu, je možné rozdeliť do piatich skupín:

- rastlinná biomasa s vysokým obsahom lignocelulózy,
- rastlinná biomasa s vysokým obsahom škrobu alebo cukru,
- rastlinná biomasa olejnatých plodín,
- organické odpady a vedľajšie produkty živočíšneho pôvodu,
- zmesi rôznych organických odpadov [1].

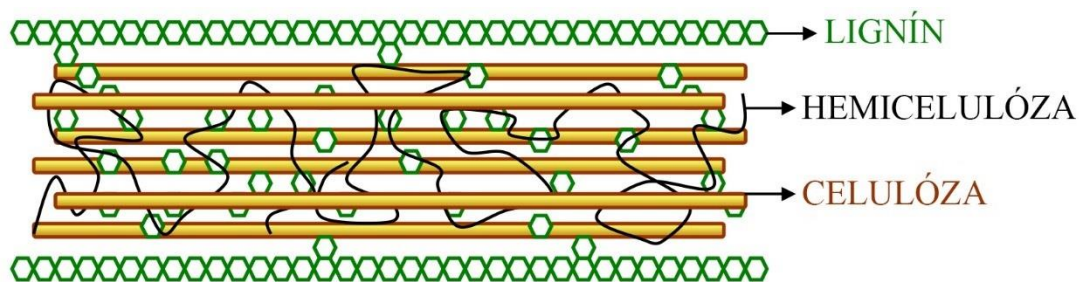
Podľa odborných výpočtov je pri celosvetovej ročnej produkcii biomasy, ktorá je približne 100 miliárd ton, jej energetický potenciál takmer päťkrát vyšší ako ročná celosvetová spotreba fosílnych palív [1].

V praxi poznáme viac spôsobov energetického využitia biomasy: prevládajúcim je využitie pevnej biomasy pre priame spaľovanie na výrobu tepla a elektrickej energie, ďalšími sú výroba bioplynu a kvapalných biopalív [15].

Aj keď sa môže zdať jej využívanie bezproblémovým, má isté limity. Hlavnou nežiadúcou vlastnosťou biomasy pri spracovaní je jej vysoká miera vlhkosti. Tá nielenže znižuje výhrevnosť, ale zároveň komplikuje spaľovanie. Býva preto nutnosťou využívanie rôznych metód vedúcich k zníženiu vlhkosti danej hmoty pred jej ďalším spracovaním. Medzi ďalšie úskalia, obzvlášť celoplošného využitia biomasy, patrí problematické rozmiestnenie jej zdrojov a s tým súvisiace riešenie otázok jej akumulácie, transportu a distribúcie získanej energie. Prekážkou sa javí aj nutnosť vysokých investícií spojených s potrebou rozširovania produkcie a slabá konkurencieschopnosť voči klasickým energetickým zdrojom [1],[16].

#### 3.1 Lignocelulózové materiály a ich zloženie

Hlavnými zložkami lignocelulózového materiálu sú prírodné polyméry: celulóza, hemicelulóza, a lignín, ktoré navzájom tvoria rastlinný bunkový komplex [8]. Okrem nich je v materiáli tiež obsiahnuté malé množstvo iných látok, akými sú minerály, tuky, alebo iné špecifické chemické látky [17].



Obr. 1 Ilustračné usporiadanie jednotlivých polymérov v lignocelulózovej štruktúre [8]

Pri voľbe konkrétneho materiálu ako zdroja lignocelulózovej suroviny je jedným z rozhodujúcich faktorov pomer zastúpenia jednotlivých polymérov. Preferovaný je vysoký obsah celulózy a naopak nízky obsah lignínu a popri prípade i hemicelulózy. Pomer zastúpenia polymérov je značne rozdielny v závislosti na type suroviny [8]. Tieto rozdiely demonštruje Tabuľka 1.

*Tab. 1 Prehľad zdrojov lignocelulózovej suroviny a zastúpenie celulózy, hemicelulózy, a lignínu v daných materiáloch [17]*

Lignocelulózový materiál	Celulóza [%]	Hemicelulóza [%]	Lignín [%]
Listnaté stromy	45-50	24-40	18-25
Ihličnaté stromy	45-50	25-35	25-35
Kukuričné klasy	45	35	15
Pšeničná slama	30	50	15
Listy	15-20	80-85	0
Trávnatý porast	25-40	35-50	10-30
Proso	45	31	12
Odpadový papier	60-70	10-20	5-10

Rozdielnosť štruktúrnej, a chemickej stavby lignocelulózových materiálov ovplyvňuje prakticky všetky kroky ich konverzie na biopalivo. Charakteru daného materiálu treba prispôbiť napríklad: spôsob transportu a manipuláciu, voľbu a podmienky predúpravy materiálu, výber vhodných enzymových preparátov, či voľbu fermentujúcich mikroorganizmov [18].

### **3.2 Odpadový papier ako surovina na výrobu kvapalných biopalív**

Svetový papierenský priemysel ročne vyprodukuje približne 350 miliónov ton rôznych druhov papiera a lepenky. Menšia časť odpadového papiera je recyklovaná, zatiaľ čo ostatok je vyhodnený, alebo spálený [19].

Z množstva rôznych druhov papiera sa istá časť, ktorú tvoria napríklad buničina, obrúsky, savý papier, hygienický papier, či kancelársky papier, vyznačuje vyšším obsahom celulózy, a naopak nízkym obsahom nežiadúceho lignínu [19].

Hlavným problémom pri využívaní zmiešaného odpadového papiera, či papierenského kalu, za účelom výroby biopalív je variabilita jeho zloženia a heterogenita, ktorá komplikuje vhodné nastavenie procesu enzymatickej hydrolýzy. Za spoľahlivejšie sa považuje využitie, konkrétneho druhu papiera, so známym zložením [19].

Ďalším faktorom, znižujúcim výťažky fermentovateľných sacharidov z odpadového papiera je prítomnosť minerálnych plnív. Možnostiam zmiernenia tohto vplyvu sa venuje podkapitola 5.2. [19].

### 3.3 Základné rozdelenie biopalív

Biopalivá môžeme vo všeobecnosti rozdeliť na biopalivá primárne a sekundárne. Primárne biopalivá sa využívajú v nespracovanej forme, zväčša na vykurovanie, alebo produkciu elektrickej energie. Takýmito palivami sú napríklad palivové drevo, drevené štiepky, alebo pelety [20].

Na rozdiel do primárnych, sú sekundárne biopalivá produktom spracovania biomasy. Sekundárnymi biopalivami rozumieme pevné, kvapalné, a plynné biopalivá, ako napríklad drevené uhlie, bioetanol, bionafta, či bioplyn, ktoré sú využívané na pohon vozidiel, alebo v rôznych priemyselných procesoch [20].

Pre nás dôležitejším rozdelením, je rozdelenie sekundárnych biopalív, obzvlášť kvapalných, na palivá prvej a druhej generácie. Toto rozdelenie je prevedené na základe druhu použitej suroviny na ich výrobu [20].

Palivá prvej generácie sa vyrábajú primárne z potravinárskych plodín, ktoré obsahujú napríklad cukry, škrob, alebo rastlinné oleje. V súčasnosti je viac ako 99 % vyprodukovaných biopalív zaradených do tejto skupiny. Hlavná limitácia výroby týchto biopalív, tkvie v obavách z dopadu na životné prostredie, a v neposlednom rade tiež vyvstáva otázka „potraviny verzus palivo“. Tá vyplýva z obáv príchodu trendu uprednostňovania týchto plodín pri poľnohospodárskej činnosti [4],[20],[21].

Palivá druhej generácie sú produktami spracovania práve lignocelulóзовých materiálov. Vďaka nízkej cene a jednoduchej dostupnosti využívaného materiálu sa týmto biopalivám prisudzuje veľký potenciál [22].

Tab. 2 Prehľad palív prvej a druhej generácie [23]

Názov biopaliva	Surovina	Technológia výroby	Výhody	Nevýhody
<b>Biopalivá prvej generácie</b>				
Etanol	Obilniny, strukoviny	Enzymatická fermentácia	Známa metóda, mnoho realizácií v prevádzke	Nerovnomerné rozloženie zdrojov pre globálne využitie, konkurenčný boj s potravinami
Etanol	Obilniny, strukoviny	Separácia a fermentácia		
Etanol	Cukornaté plodiny	Fermentácia	Známa metóda, efektívnejšia ako metódy využívajúce škrob	
Bionafta (FAME)	Rastlinný olej, tuky	Transesterifikácia	Jednoduchá výroba, možnosť využitia v naftových agregátoch bez dodatočných úprav	Palivo je nevyhovujúce do chladných klimatických podmienok
<b>Biopalivá druhej generácie</b>				
Zelená nafta	Rastlinný olej, tuky	Hydroprocesy	Nízky obsah síry, nižšie výrobné náklady, ako pri bionafte	Zlá dostupnosť suroviny
Biobutanol	Lignocelulózové materiály, škrob, cukornaté plodiny	ABE fermentácia	Jednoduchý transport v existujúcej sieti, väčšia energetická hodnota, ako pri etanole	Vysoké náklady, nízky výťažok
Bioetanol	Lignocelulózové materiály	Enzymatická hydrolýza, fermentácia	Potenciál vysokých výťažkov, relatívne nízke náklady spojené so zariadeniami, dostupnosť suroviny	Vysoká cena enzýmov
Bioetanol	Lignocelulózové materiály	Splyňovanie, fermentácia	Vyššie výnosy ako pri metóde s priamou fermentáciou, dostupnosť suroviny	Nutnosť použitia vysušenej biomasy

## 4 PREHĽAD METÓD HYDROLÝZY LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLOV PRE FERMENTAČNÉ TECHNOLOGIE

Dôležitá časť procesu výroby bioetanolu spočíva v hydrolýze lignocelulózového materiálu na fermentovateľné sacharidy [24].

Táto etapa rozhoduje o celkovej účinnosti celého procesu. Z množstva dostupných metód sa ako najefektívnejšie javia chemické a enzymatické procesy [24].

### 4.1 Chemická hydrolýza

Chemická hydrolýza spočíva vo vystavení lignocelulózového materiálu chemikáliám. Materiál sa chemikáliám vystavuje na potrebný čas za optimálnej teploty s cieľom zabezpečiť efektívny rozpad polymérov celulózy a hemicelulózy na monoméry [25].

Najčastejšie sú využívané kyseliny, ako  $H_2SO_4$  a  $HCl$  [25]. Kyseliny všeobecne zohrávajú v procese výroby biopaliva z lignocelulózových materiálov dvojitú úlohu, nakoľko, ako je popísané v podkapitole 5.1.2, sú používané aj na predúpravu materiálu pred inými spôsobmi hydrolýzy [26]. Hydrolýza kyselinami sa delí do dvoch skupín opísaných v Tabuľke 3.

Tab. 3 Porovnanie metód chemickej hydrolýzy kyselinami [25]

Metóda hydrolýzy	Výhody	Nevýhody
Hydrolýza koncentrovanými kyselinami	<ul style="list-style-type: none"><li>- priebeh za nízkych teplôt</li><li>- vysoká výťažnosť sacharidov</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- vysoká spotreba kyselín</li><li>- veľký korozívny vplyv na materiál zariadení</li><li>- vysoká spotreba energie na recykláciu použitých kyselín</li><li>- dlhší reakčný čas</li><li>- negatívny vplyv na životné prostredie</li></ul>
Hydrolýza zriedenými kyselinami	<ul style="list-style-type: none"><li>- nízka spotreba kyselín</li><li>- krátka doba zdržania</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- priebeh za vysokých teplôt</li><li>- nízka výťažnosť sacharidov</li><li>- veľký korozívny vplyv na materiál zariadení</li><li>- vznik nežiadúcich vedľajších produktov</li><li>- negatívny vplyv na životné prostredie</li></ul>

Okrem kyselín, je na chemickú hydrolýzu možné použiť aj menej nebezpečné a agresívne rozpúšťadlá. Takými sú napríklad ionické kvapaliny - soli, s teplotou topenia pohybujúcou sa okolo izbovej teploty. Tie sa však vyznačujú nižšou výťažnosťou [24].

#### 4.1.1 Hydrolýza koncentrovanými kyselinami

Používanie koncentrovaných kyselín pre produkciu sacharidov z lignocelulózovej biomasy je proces s dlhou históriou. Prvé zmienky o tomto procese sa objavili už na začiatku 19. storočia [24].

V prvom kroku procesu je materiál rozpustený v kyseline s koncentráciou 30 – 70 %. Počas priebehu tohto procesu je nutné udržať teplotu do 50 °C a atmosferický tlak [25],[27]. Koncentrovaná kyselina narúša vodíkové väzby celulózových reťazcov, čím ich privádza do úplne amorfného stavu [24].

Následne je zmes s kyselinou zriedená vodou, za cieľom zníženia koncentrácie, a zahrievaná na teploty 100 – 200 °C, po dobu 1 – 3 hodín [29].

Teoretická hodnota výťažku glukózy z celulózy a hemicelulózy použitím tejto metódy je 80 - 90 % [28]. Takáto vysoká výnosnosť je dôsledkom nezávislosti rýchlosti procesu na povahe štruktúry a na kryštalinite spracovávaného materiálu [29].

Použitie kyselín vysokých koncentrácií však prináša nezanedbateľné finančné náklady. Z dôvodu vysokej korozívnosti a toxicity kyselín sú potrebné investície do reakčných zariadení z drahých zliatin, alebo špeciálnych, keramických, či karbónovo-tehlových materiálov. Ďalšou finančnou záťažou je aj pomerne zložitá recyklácia použitých kyselín [25].

#### 4.1.2 Hydrolýza zriedenými kyselinami

Z dostupných chemických metód je hydrolýza zriedenými kyselinami tou najbežnejšie používanou [25]. Dôvodom je vyššia ekonomická prijateľnosť a nižší negatívny dopad na životné prostredie v porovnaní s použitím koncentrovaných kyselín [24].

Proces sa koná pri relatívne vysokých teplotách (160 – 230 °C) a za vysokého tlaku (~10 atm). Využívajú sa kyseliny s koncentráciou 2 – 5 % [27],[30].

Pri hydrolýze zriedenými kyselinami, narozdiel od vyššie spomenutej metódy nedochádza v takej značnej miere k degradácii glukózy po uvoľnení z polyméru. Použitie menej koncentrovaných kyselín však prináša nižšiu rýchlosť procesu, z dôvodu menej agresívneho pôsobenia na štruktúru lignocelulózového materiálu [29].

Hlavnou nevýhodou metódy je značná kumulácia nežiadúcich zlúčenín, vznikajúcich rozkladom monosacharidov hemicelulózy. Tieto zlúčeniny zahŕňajú napríklad furfural, produkt dehydratácie pentózy, alebo hydroxymetylfurfural (HMF), produkt dehydratácie hexózy, ktoré sú v hemicelulóze obsiahnuté. Menované zlúčeniny inhibujú neskoršiu fermentáciu, čo vedie k následnému nižšiemu výťažku etanolu [26].

#### 4.1.3 Hydrolýza ionickými kvapalinami

Nájsť alternatívu k použitiu kyselín, ktorá by bola menej ekonomicky náročná a zároveň šetrná k životnému prostrediu, by mohlo byť veľmi užitočné. Práve takou môžu byť ionické kvapaliny - soli v kvapalnom skupenstve, rozpustné za izbových, alebo miernych teplôt, ktoré sú zložené výhradne z iónov, držiacich pokope Coulombovými silami. Rovnako, ako kyseliny, dokážu ionické soli narúšať vodíkové väzby celulózy a umožniť tým jej rozpustenie [24],[28].

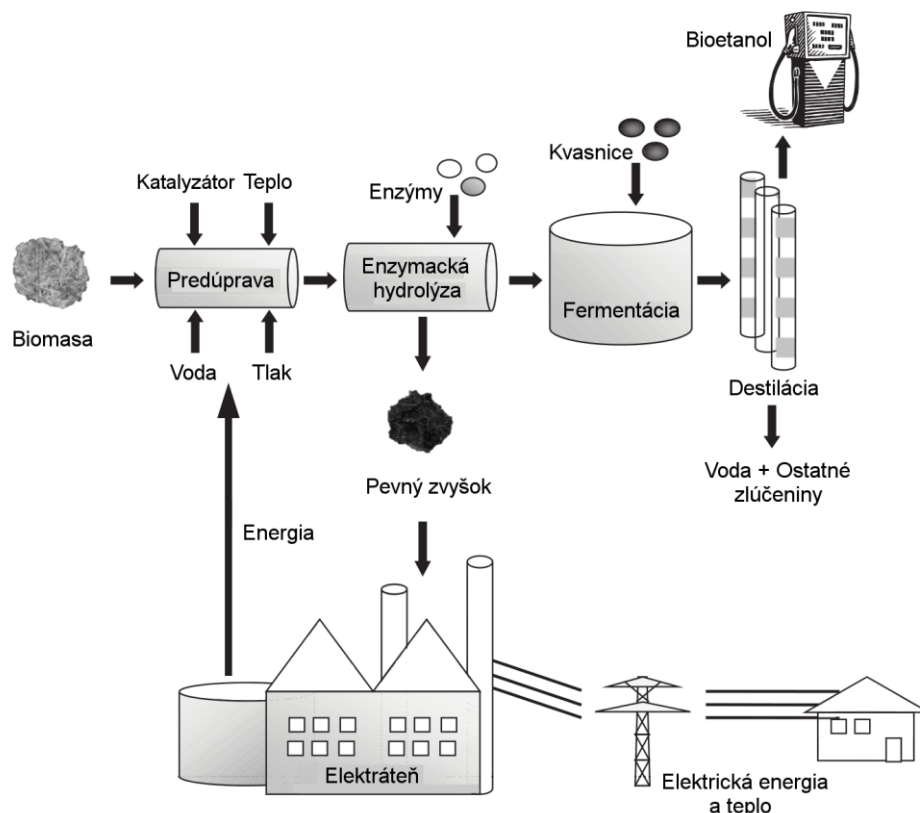
V porovnaní s tradičnými rozpúšťadlami, vykazujú ionické kvapaliny zaujímavé vlastnosti, ako rozumná chemická inertnosť, žiadna produkcia toxických a explozívnych plynov, dobrá tepelná stabilita, nízka prchavosť a jedinečné rozpúšťacie schopnosti. Ionické kvapaliny taktiež prinášajú možnosť ich optimálnej voľby na konkrétne účely, vďaka závislosti fyzikálnych a chemických vlastností na kombinácii aniónov a katiónov [24].

Výtťažnosť glukózy touto metódou je v porovnaní s metódami používajúcimi kyseliny veľmi slabá a tým pádom je jej použitie vhodné skôr na predúpravu materiálu, s následnou enzymatickou hydrolýzou [28].

## 4.2 Enzymatická hydrolýza

V porovnaní s chemickými metódami je enzymatická hydrolýza menej energeticky náročná, odohráva sa za miernych podmienok, a vzniká pri nej menej inhibítorov fermentácie. Ako optimálne podmienky pre pôsobenie pre proces enzymatickej hydrolýzy sú uvádzané teploty v rozmedzí 40 – 50 °C a pH 4 – 5 [6],[24].

Pred enzymatickou hydrolýzou sa prevádza predúprava za cieľom rozrušenia lignocelulózového materiálu. Tento zásah, obzvlášť pri použití chemických metód predúpravy, má za následok zníženú výnosnosť procesu hydrolýzy. Z tohto dôvodu vyvstáva požiadavka pridania ďalších druhov enzýmov, s cieľom maximalizácie výtťažku sacharidov z frakcií celulózy a hemicelulózy. Za týmto účelom sa neustále hľadajú najvhodnejšie zmesi celuláz, a ďalších hydrolyzujúcich enzýmov [24].



Obr. 2 Schematické znázornenie priebehu procesu výroby kvapalného biopaliva enzymatickou hydrolýzou [31]

#### 4.2.1 Enzymatická hydrolýza celulózy

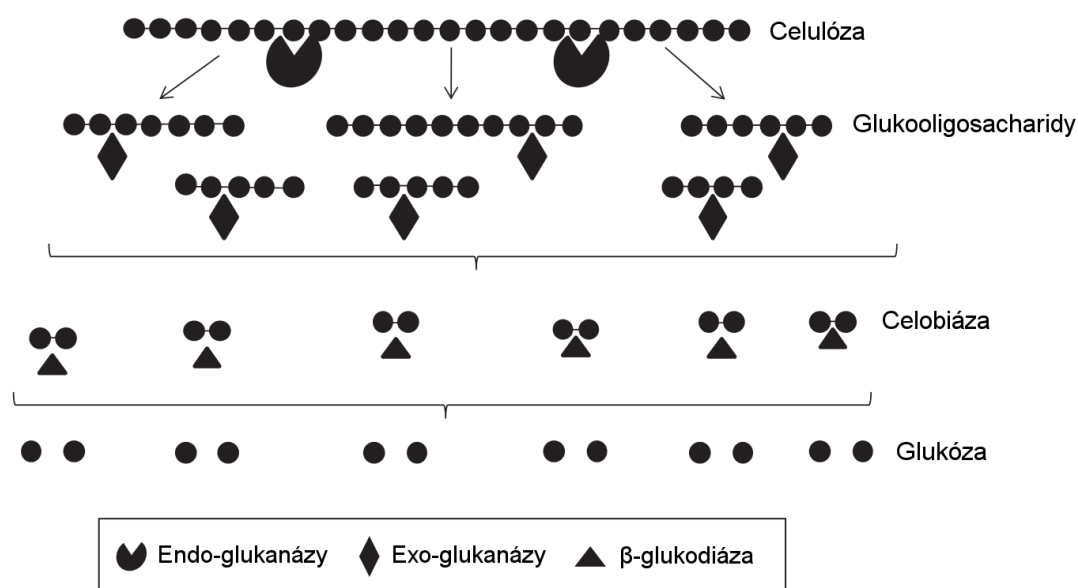
Enzymy, ktoré sú schopné hydrolyzovať celulózu, sa nazývajú celulózy. Tieto enzýmy sú produkované baktériami a hubami, ktoré môžu byť aeróbne, anaeróbne, mezofilné alebo termofilné. Baktérie schopné ich produkcie sú napríklad: *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* a *Streptomyces*. Príkladom rodov húb produkujúcich celulózy sú: *Sclerotium rolfisii*, *P. chrysosporium*, *Aspergillus* a najintenzívnejšie skúmaný rod *Trichoderma* [32].

Celulóza je enzymaticky degradovaná na glukózu synergickým pôsobením viacerých celulótických enzýmov. Takýto mix enzýmov môžeme tiež nazvať komplex enzýmov [33]. Tri hlavné enzýmy v celulózovom komplexe sú:

**Endo-glukanázy** – napádajú oblasti nízkej kryštalinity v celulózových vláknach, čím vytvárajú voľné konce reťazcov a uvoľňujú glukooligosacharidy [32],[33].

**Exo-glukanázy** – alebo tiež **celobiohydrolázy**, odštiepujú celobiázové jednotky z koncov reťazcov [33].

**$\beta$ -glukozidázy** – hydrolyzujú celobiázu na glukózu [32].



Obr. 3 Mechanizmus pôsobenia celuláz [24]

Výtazok glukózy z rozkladu celulózy nezávisí len na zložení celulózového komplexu. Je známe, že celubióza a glukóza inhibujú pôsobenie celuláz. Tento vplyv zmiernuje prítomnosť  $\beta$ -glukozidáz, ktoré sú však negatívne ovplyvňované zložkami hemicelulózy, ako napríklad xylán, xylóza, alebo xylo-oligosacharidy. Ak bola použitá metóda predúpravy, ktorá xylán neodstránila, je potrebné aplikovať enzýmový komplex obsahujúci aj xylanázy [31].

#### 4.2.2 Enzymatická hydrolýza hemicelulózy

Hemicelulóza je heterogénny polymér, skladajúci sa z niekoľkých pentóz a hexóz. Z tohto dôvodu je k jej degradácii potrebných viac druhov enzýmov, a to napríklad xylanázy, manázy, či arabinózy [33].

Hlavnou zložkou hemicelulózy je už spomínaný xylán. Na degradácii xylánu sa podieľajú xylanázy. Jeho degradáciou sa nielen zvyšuje prístupnosť celulózy na enzymatickú hydrolýzu, ale tiež dochádza k výt'azku xylózy, ktorá je pre niektoré mikroorganizmy fermentovateľný sacharid [24],[34].

Xylán netvorí pevne zaobalené kryštalické štruktúry, ako celulóza a tým pádom je ľahšie hydrolyzovateľný. Napriek tomu sú na úplnú hydrolýzu xylánu potrebné viaceré druhy xylanáz. Ich zdrojom sú napríklad *Aspergillus niger*, *T. reesei*, *Bacillus*, and *Humicola insolens* [24].

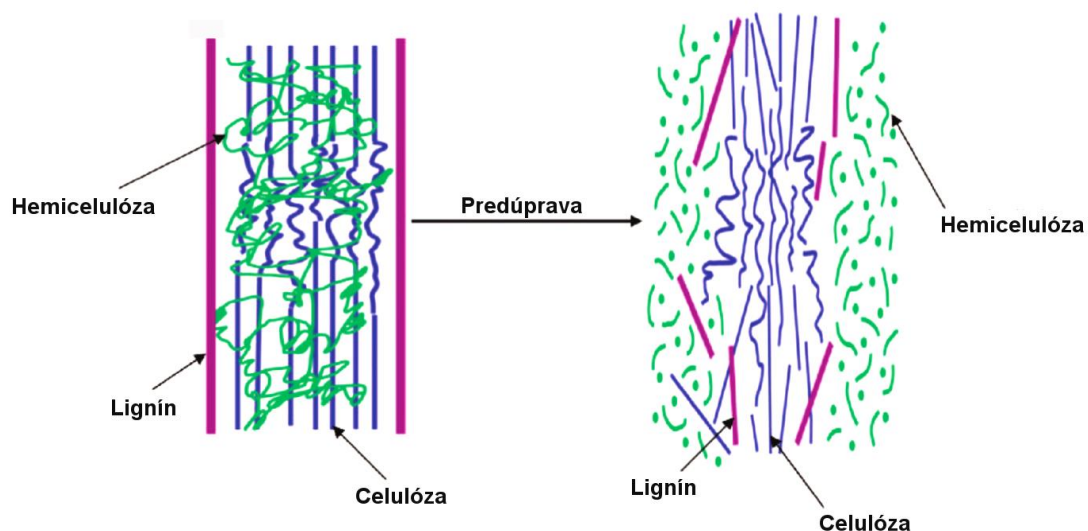
Hlavné zložky enzymatického komplexu potrebného na úplnú hydrolýzu xylánu sú: Endo-(1, 4)- $\beta$ -xylanáza,  $\beta$ -xylozidáza,  $\alpha$ -arabino-furanosidáza a esterázy. V závislosti na zložení hemicelulózy môžu byť potrebné ďalšie rôzne enzýmy [24].

## 5 SÚČASNÝ STAV POZNATKOV V SPRACOVANÍ ODPADOVÉHO PAPIERA ENZYMATICOU HYDROLÝZOU A FERMENTÁCIE PRODUKTU HYDROLÝZY NA ETANOL

### 5.1 Predúprava lignocelulóзовého materiálu

Jedným z počiatočných procesov pri výrobe kvapalných biopalív je predúprava materiálu. Lignocelulóзовý materiál obsahuje lignín a hemicelulóзу, ktoré zťažujú prístup k celulóзе a tým znižujú výťažnosť. Cieľom predúpravy je teda zmena štruktúry materiálu tak, aby sa celulóза obsiahnutá v materiáli stala dostupnejšou pre nasledujúci proces hydrolýzy. Ďalšou nespornou výhodou predúpravy materiálu, je jeho zhutnenie, ktoré má za následok zníženie nákladov na transport [35],[36].

Predúprava materiálu môže byť najdrahšou časťou celej konverzie biomasy na biopalivo, existuje však veľký potenciál na zlepšovanie efektivity a znižovanie nákladnosti tohto procesu [35].



Obr. 4 Znážornenie významu predúpravy lignocelulóзовého materiálu [35]

Na predúpravu sa využívajú rôzne metódy. Kvôli zložitosti a rozmanitosti štruktúry lignocelulóзовého materiálu sa najvhodnejšia metóda jeho predúpravy volí na základe konkrétneho typu a vlastností materiálu [37].

Zvolená metóda predúpravy musí spĺňať nasledujúce požiadavky:

- zlepšiť tvorbu sacharidov, alebo zlepšiť schopnosť následne tvoriť sacharidy hydrolýzou,
- zabrániť degradácií, alebo strate sacharidov,
- predísť, alebo minimalizovať vznik vedľajších produktov, ktoré by mohli inhibovať nasledujúcu hydrolýzu, alebo fermentačné procesy,
- byť cenovo efektívna [35].

Používané metódy sa na základe princípu predúpravy delia na: fyzikálne, chemické, fyzikálno-chemické a biologické. V nasledujúcich kapitolách sú spomenuté výlučne tie, ktoré sú často využívané práve na predúpravu odpadového papiera [5].

### 5.1.1 Fyzikálne metódy predúpravy

Použitím fyzikálnych metód predúpravy dochádza k zmenšovaniu veľkostí častíc. To má za následok zvýšenie prístupného povrchu, zníženie kryštalinity a zníženie polymerizácie celulózy [38].

Hlavná výhoda fyzikálnych metód predúpravy je, že pri úprave materiálu nevznikajú žiadne toxické, alebo škodlivé vedľajšie produkty. Väčšina fyzikálnych metód má však problémy s vysokou spotrebou energie a zvýšenými nákladmi na proces [39].

Lignocelulóзовые materiály môžu byť napríklad mechanicky rozdrobované kombináciou sekania, drvenia, alebo mletia materiálu. Po sekaní majú častice veľkosť 10 – 30 mm, po drvení, alebo mletí 0,2 – 2 mm [32].

Preferovanou, nie však energeticky najefektívnejšou mechanickou metódou predúpravy odpadového papiera, je drvenie kladivovým mlynom. Kladivové mlyny sú pomerne lacné, jednoducho sa dajú prispôbiť povahe drveného materiálu a vďaka zameniteľnosti prepádových sít umožňujú meniť výslednú veľkosť častíc podľa daných požiadaviek. Ich spotreba energie je závislá na: množstve spracovávaného materiálu, počiatocnej veľkosti častíc, vlhkosti materiálu a ďalších vlastnostiach materiálu [38],[40].

Pyrolýza je termický rozklad organických látok na nízkomolekulárne zlúčeniny, bez prístupu médií obsahujúcich kyslík [1].

Pri spracovaní biomasy pomocou pyrolýzy za teploty okolo 300 °C, dochádza k rýchlemu rozkladu celulózy na plynné produkty a zvyškovú uhoľnú spáleninu. Za použitia nižších teplôt je rozklad oveľa pomalší a vzniknutý produkt je menej prchavý [35]. Časť vzniknutej uhoľnej zložky je možné využiť na výrobu tepla pre ďalší proces pyrolýzy [41].

### 5.1.2 Chemické metódy predúpravy

Chemické metódy predúpravy lignocelulóзовých materiálov sú vo všeobecnosti založené na dezintegrácii daného materiálu pomocou chemickej látky. Používajú sa predovšetkým organické a anorganické kyseliny, alkálie, alebo rôzne organické rozpúšťadlá [40].

Spoločným problémom týchto metód je vznik toxických látok, inhibítorov hydrolýzy a korozívne chovanie používaných kyselín voči materiálom reaktorov. Komplikáciou je nutnosť neutralizácie takto predupravovaného, čo navyšuje náklady a prináša ďalšie toxické látky ako furfural, kyselina ferulová a kyselina kumarová. Preto tieto metódy nie sú, napríklad v porovnaní s fyzikálnymi metódami predúpravy, úplne vhodné pre masovú produkciu biopalív [39],[40].

Najpoužívanejšou metódou, spomedzi chemických metód predúpravy materiálu je kyslá hydrolyza. Používajú sa koncentrované, aj zriedené kyslé roztoky, najčastejšie na báze  $H_2SO_4$ , ale aj  $HCl$ ,  $HNO_3$ , alebo  $H_3PO_4$  [40].

Výber typu reaktora, teploty reakcie, alebo dĺžky doby zdržania materiálu v roztoku variuje na základe zvoleného druhu roztoku a jeho koncentrácie. Zväčša sa používajú teploty v rozmedzí 120 – 190 °C a doba zdržania 5 – 30 minút. Najlepšie výsledky s ohľadom na výnosnosť po predúprave sa dosahujú pri teplotách 140 – 190 °C s kyselinou o nízkej koncentrácii, teda napríklad 0,1 – 1 % pri  $H_2SO_4$  [38],[40].

Ďalšou používanou metódou je alkalická hydrolyza, ktorej princíp spočíva v máčaní materiálu v roztoku  $NaOH$ ,  $Ca(OH)_2$ , alebo amoniaku. Alkalická hydrolyza využíva nižšie teploty a tlak, ako ostatné chemické metódy predúpravy. Obvykle prebieha v izbových podmienkach a doba zdržania v roztoku sa pohybuje skôr v hodinách až dňoch [35],[40].

Pre predstavu podmienok procesu alkalické hydrolyzy môže poslúžiť hydrolytická predúprava kukuričnej siláže vápnom ( $Ca(OH)_2$ ), ktorá obvykle prebieha pri teplotách 85 - 150 °C, s dobou zdržania 3 – 13 hodín [40].

Alkalická hydrolyza vedie k zníženiu kryštalinity, zvýšeniu plochy prístupného povrchu, k narušeniu lignínovej štruktúry a k separácii lignínu a karbohydrátov. Aj napriek použitým nízkym teplotám a tlakom sa počas procesu produkuje veľké množstvo solí, ktoré majú za svedomí narušenie ďalších procesov [39].

### 5.1.3 Fyzikálno-chemické metódy predúpravy

Metódy predúpravy lignocelulóзовých materiálov kombinujúce fyzikálne a chemické procesy tvoria samostatnú kategóriu zvanú fyzikálno-chemické metódy predúpravy [38].

Všetky fyzikálno-chemické metódy sú založené na teplote biomasy. Pri teplote materiálu na 150 – 180 °C dochádza k rozpúšťaniu hemicelulózy a pri ďalšom miernom zvýšení teploty aj k rozpadu lignínu. S teplotami nad 160 °C prichádza však aj nežiaduca tvorba toxických látok a inhibítorov, ktoré majú neblahý dopad na metanogénne baktérie, rozhodujúce o, pre budúce procesy dôležitom, anaeróbnom rozklade [40],[42].

Príkladom fyzikálno-chemickej metódy je AFEX. Tento názov pochádza z anglických slov amonia fiber explosion, čo vo voľnom preklade znamená explózia čpavkových pár [38].

AFEX funguje na princípe máčania biomasy v kvapalnom čpavku za relatívne vysokých teplôt (90 – 100 °C), po dobu približne 30 minút. Po uplynutí doby zdržania nasleduje okamžitý pokles tlaku, vďaka čomu dochádza k fázovej zmene čpavku z kvapalného skupenstva na plynné. S tým súvisiaci objemová zmena spôsobí intenzívne rozomletie materiálu [38],[40].

Parametre rozhodujúce o efektívnosti procesu sú: koncentrácia amoniaku, teplota, množstvo vody, tlakový rozdiel, doba zdržania, a počet opakovaní cyklu [38].

Hlavnou výhodou tejto metódy je žiadna alebo slabá tvorba niektorých druhov inhibičných zlúčenín. AFEX má však aj niekoľko nevýhod, medzi ktoré patrí nedostatočné rozpúšťanie hemicelulózy, v porovnaní s inými metódami, a nutnosť recyklácie použitého amoniaku, aby sa predišlo výraznému predraženiu procesu a neblahému dopadu na životné prostredie [38].

Ďalším fyzikálno-chemickým procesom, ktorý je mimochodom dôverne známy z papierenského priemyslu, je varenie lignocelulóзовého materiálu v horúcej vode [38].

Voda o teplote 200 – 230 °C je do materiálu vstrekaná pod veľkým tlakom. Materiál je jej pôsobeniu vystavený po dobu 15 minút. Následkom je hydratácia celulózy, a odbúranie výraznej časti hemicelulózy a taktiež časti lignínu. Tento spôsob predúpravy lignocelulóзовého materiálu sa radí medzi najefektívnejšie hydrotermálne procesy, a to vďaka intenzívnemu rozkladu polysacharidov a minimálnej tvorbe inhibítorov hydrolyzy [38],[40].

Aby sa dosiahlo optimálneho výsledku pri takejto predúprave, je dôležité dbať na dodržanie vhodného pH substrátu, pracovnej teploty a času pôsobenia [38].

Nepotrebnosť pridávania chemikálií, znižovania častíc biomasy a nízke investičné nároky na materiál reaktorov, robia z tejto metódy veľmi zaujímavú alternatívu aj pre masovú produkciu [38].

#### **5.1.4 Biologické metódy predúpravy**

Nízka energetická náročnosť, jednoduchosť vytvorenia vhodného prostredia pre proces, a absencia toxických látok sú charakteristické výhody použitia mikroorganizmov na predúpravu biomasy [32].

Aplikované mikroorganizmy degradujú lignín a hemicelulózu, avšak vďaka vyššej prirodzenej odolnosti, iba malú časť celulózy [38].

Pri štúdiách boli využívané rôzne druhy húb a plesní. Najvyššia výnosnosť bola dokázaná pri použití bielych kmeňov húb. Hnedé kmene sú nevhodné, nakoľko primárne napádajú celulózu [32],[40].

Využívanie biologickej predúpravy lignocelulóзовých materiálov v priemysle komplikuje malá rýchlosť procesu, v porovnaní s ostatnými metódami a taktiež jej nízka efektivita [40].

## **5.2 Demineralizácia odpadového papiera**

Prítomnosť minerálnych plnív, obzvlášť kalcitu a kaolínu, v odpadovom papieri, vedie k neproduktívnej absorpcii, a k inhibícií enzýmov, čo v konečnom dôsledku brzdí enzymatický rozklad papiera. Z tohto dôvodu by mala byť prevedená demineralizácia, ktorá zníži obsah minerálnych plnív, a zároveň zvýši obsah celulózy [19].

Papier v počiatočnom štádiu je mletý, a miešaný s vodou pri 5000 ot/min, po dobu jednej minúty. Následne zmes prechádza cez sitko v saní. Papierové vlákna ostávajú zachytené na sitku, zatiaľ čo sa malé čiastočky plniva, spolu s vodou, prepadávajú na dno sania. Ak bol súčasťou prítomných plnív aj vápenec, pridáva sa 1 % roztok HCl. Na záver je zmes pretlačovaná cez sklenený filter, na získanie pevného podielu v rozmedzí 30 – 40 % [19].

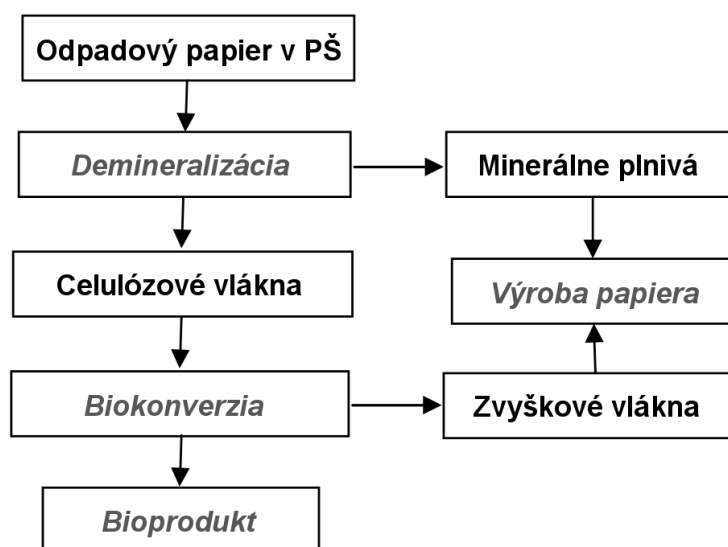
V Tabuľke 4 je porovnaný efekt demineralizácie na zloženie jednotlivých materiálov.

Tab. 4 Porovnanie zloženia rôznych druhov papiera v počiatočnom štádiu (PŠ) a po demineralizácii (DM) [19]

Druh odpadového papiera	Celulóza [%]		Hemicelulóza [%]		Lignín [%]		Minerály [%]	
	PŠ	DM	PŠ	DM	PŠ	DM	PŠ	DM
Kartón	61	63	12	13	18	19	7	3
Novinový papier	38	50	15	18	21	26	19	4
Baliaci papier	60	73	11	8	7	12	20	3
Obrúsky	58	78	6	10	4	5	29	4
Savý papier	81	84	6	7	4	3	7	3
Biely kancelársky papier	62	87	5	8	1	0	30	1

Najlepší dopad mala demineralizácia na kancelársky papier, ktorý v počiatočnom štádiu obsahoval až 30 % plnív. To značne ovplyvnilo priebeh enzymatickej hydrolýzy, a bol dosiahnutý najnižší konverzný pomer spomedzi testovaných materiálov, len 10 %. Po prevedenej demineralizácii a následnej hydrolýze už upraveného materiálu, bol konverzný pomer naopak najvyšší a dosiahol hodnoty až 58 % [19].

Zvyškové vedľajšie produkty z procesov demineralizácie a konverzie na biopalivo je možné opätovne využiť pri výrobe papiera. To značí, že navrhovaná technológia dovoľuje úplné využitie odpadového papiera. [19]



Obr. 5 Schéma využitia zvyškových vedľajších produktov v papierenskom priemysle (PŠ značí počiatočné štádium) [19]

### 5.3 Metóda s vysokým dávkovaním substrátu

Proces enzymatickej hydrolýzy považujeme za proces s vysokým dávkovaním substrátu vtedy, ak tvorí pevný substrát aspoň 15 % z celkovej hmotnosti zmesi, pričom zvyšok je voda [31].

Enzymatická hydrolýza prevedená s vysokým dávkovaním substrátu prináša niekoľko výhod, oproti malým a stredným dávkam. Hlavnou výhodou je vyššia koncentrácia sacharidov, teda v konečnom dôsledku aj teoreticky vyššia koncentráciu etanolu, čo môže znížiť náklady na energie a náklady spojené s destiláciou [31].

S tým, ako rastie hmotnostné zastúpenie substrátu v celej spracovávanej zmesi, rastú aj problémy, ktoré sú pri nižšom dávkovaní zanedbateľné. Jedným z hlavných aspektov limitujúcich metódu s vysokým dávkovaním substrátu je nedostatok vody v reaktore. Prítomnosť vody je pre efektívny proces enzymatickej hydrolýzy nevyhnutná, nakoľko sa stará o transport hmoty a plní mazaciu funkciu - znižuje viskozitu zmesi. Znižujúcou sa viskozitou sa znižuje šmykové napätie častíc, a to umožňuje použitie menšej sily pri miešaní a jednoduchšiu manipuláciu s touto zmesou [31].

Ďalšími negatívami využitia tejto metódy môžu byť: nerentabilita metódy pri využití niektorých druhov surovín, z dôvodu vysokého výdaja energie na miešanie zmesi, a inhibícia reakcií, na ktorej nárast má zvýšenie dávky substrátu tiež vplyv, z dôvodu zvýšenia koncentrácie inhibítorov [31].

Pri laboratórnych pokusoch bola prevedená enzymatická hydrolýza s vysokým dávkovaním substrátu (pevný substrát tvoril 20 % z celkovej hmotnosti zmesi), na štyroch vzorkách papiera. Použitý bol enzým CELLIC<sup>®</sup> CTec 1, od spoločnosti Novozymes<sup>®</sup>, s dávkovaním 160 mg/g glukánu. Reakčný čas bol 72 hodín. Jednotlivé vzorky papiera boli pred enzymatickou hydrolýzou predupravené namletím a máčaním vo vode. Autori experimentu uviedli zvýšenie koncentrácie sacharidov o 10 %, v porovnaní s bežným dávkovaním. Konkrétne dosiahnuté výsledky však neboli zverejnené [43]. Porovnanie jednotlivých vzoriek, s percentuálnou výťažnosťou sacharidov z teoretickej hodnoty, je uvedené v Tabuľke 5.

Tab. 5 Porovnanie výťažkov sacharidov metódou s vysokým dávkovaním substrátu [43]

	Novinový papier	Kancelársky papier	Lepenka	Časopis
Glukóza [%]	55,5	76,1	62,2	49,8
Xylóza [%]	57,7	62,8	61,8	41,8
Celobiáza [%]	3,3	5,4	2,2	2,1
Galaktóza [%]	57,0	-	62,4	44,8
Manóza [%]	56,2	-	60,1	46,7
Arabinóza [%]	28,3	-	31,7	19,6

Ekonomická analýza autorov experimentu ukázala, že bioetanol vyrobený zo všetkých vzoriek papiera, s výnimkou časopisu, by mohol byť cenovo konkurencieschopný bežnému benzínu. Bolo tiež preukázané, že pri použití predúpravy zriedenými kyselinami v prípade kancelárskeho papiera, alebo predúpravy vápnom v prípade novinového papiera, je možné výťažnosť procesu ešte zvýšiť [43].

## 5.4 Simultánna sacharifikácia a fermentácia (SSF)

Oproti štandardnému postupu, kedy prebieha hydrolýza a fermentácia oddelene (SHF), je možnosťou aj využitie metódy simultánnej sacharifikácie (SSF). Princípom je spojenie enzymatickej hydrolýzy a fermentácie získaných cukrov, kedy sa oba procesy odohrávajú v tom istom reaktore, a za rovnakých podmienok [18].

Spojením týchto procesov je možné dosiahnuť zníženie tvorby inhibítorov, vznikajúcich pri enzymatickej hydrolýze, najmä vďaka rýchlemu spotrebovaniu glukózy fermentujúcimi mikroorganizmami, výrazné zníženie času reakcie a taktiež zníženie investičných nákladov [18],[44].

Komplikáciou vyplývajúcou so spojenia procesov je nájdenie optimálnych podmienok, za ktorých môžu efektívne prebiehať oba procesy. Tým hlavným problémom je optimalizácia teploty. Ako už bolo spomínané v podkapitole 4.2, enzymatická hydrolýza prebieha v rozmedzí teplôt 40 – 50 °C, zatiaľ čo mikroorganizmy určené na fermentáciu vzniknutých sacharidov vyžadujú teploty medzi 28 – 37 °C. Riešením tohto problému môže byť použitie termofilných mikroorganizmov [5],[18],[45].

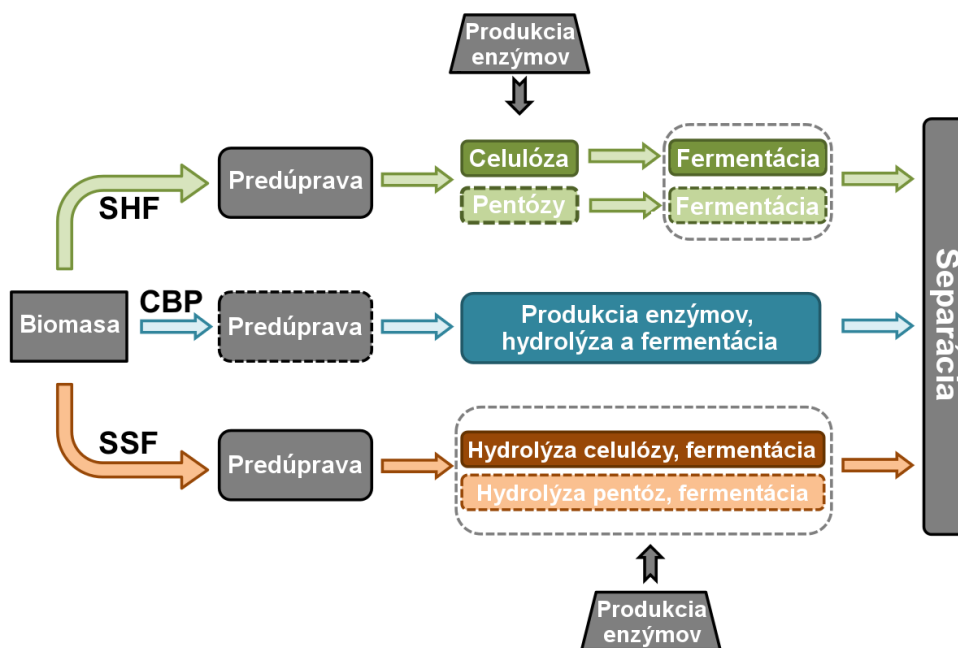
Problematická je aj recyklácia použitých enzýmov a fermentujúcich mikroorganizmov. Práve fermentujúce mikroorganizmy je ťažké znovu použiť, kvôli náročnosti ich separácie od lignínu [18].

Ďalším potenciálnym problémom simultánnej sacharifikácie a fermentácie je inaktivácia enzýmov etanolom. To však môže byť zmiernené použitím enzýmov tolerantných voči etanolu, alebo súbežnou destiláciou etanolu z fermentovanej zmesi [46].

Všeobecné požiadavky na mikroorganizmy, ktoré majú byť použité na fermentáciu, sú primárne ich schopnosť prinášať vysoké výťažky etanolu a schopnosť vydržať jeho vysoké koncentrácie s cieľom udržania nízkych nákladov na destiláciu. Pri SSF sa k týmto požiadavkám pridávajú ďalšie, ako zvýšená tolerancia inhibítorov, schopnosť skvasovať viaceré druhy sacharidov, a zvýšená teplotná tolerancia, keďže optimálna teplota pre proces enzymatickej hydrolýzy býva štandardne vyššia, ako teplota pre fermentáciu [18].

## 5.5 Metóda CBP

Vysoké náklady spojené so separátnou produkciou enzýmov pre metódy SHF a SSF upriamujú pozornosť výskum metódy zvanej CBP (z anglického consolidated bioprocessing), ktorej princíp tkvie v kombinácii procesov produkcie enzýmov, hydrolýzy a fermentácie, a ich odohrávaní sa v jednom reaktore. K vývoju tejto metódy viedlo hlbšie skúmanie termofilných organizmov [46].



Obr. 6 Schéma priebehov procesov SHF, SSF a CBP [46]

Využívanie CBP môže viesť k nasledujúcim výhodám:

- zníženie investičných nákladov na zariadenia,
- zníženie potrebného množstva suroviny,
- zlepšenie efektivity hydrolyzy zmiernením inhibície,
- celkové zjednodušenie celej operácie [46].

## 5.6 Využitie termofilných mikroorganizmov

V súvislosti s metódami SSF, opísanou v podkapitole 5.4 alebo metódou CBP charakterizovanou v podkapitole 5.5 je vhodné využitie termofilných fermentujúcich mikroorganizmov, ktoré sú schopné tolerovať vyššie teploty. Vyššie procesné teploty navyše minimalizujú možnosť biologickej kontaminácie, redukujú viskozitu substrátu, a zvyšujú rozpustnosť substrátu, čo môže viesť k zníženiu reakčných časov [46].

Použitie termofilných organizmov prináša možnosť optimálneho zladenia teplôt pre simultánne pôsobenie enzýmov a fermentujúcich organizmov, čoho dôsledkom je nárast efektivity sacharifikácie [46].

Ako zástupcov termofilných baktérií aj s ich optimálnymi teplotami na rozmnožovanie, je možné uviesť napríklad: *Clostridium clariflavum* (55–60 °C), *Clostridium thermocellum* (60 °C) [46].

Zástupcami termofilných kvasiniek s uvedenými maximálnymi teplotami, pri ktorých sú ešte schopné rozmnožovania sú: *Hansenula polymorpha* (48 °C) a *Candida thermophila* (50 °C) [47].

## 6 KOMERČNÉ REALIZÁCIE ENZYMATICKEJ HYDROLÝZY LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLOV S FERMENTÁCIOU VZNIKNUTÉHO PRODUKTU

V roku 2013 bola prvý krát oficiálne zahájená komerčná výroba bioetanolu z lignocelulózovej suroviny. Za projektom stojí spoločnosť Beta Renewables S.p.A., ktorej výrobný závod bol postavený v Ceresentine, v Taliansku [48].

V plnej prevádzke je ročná produkcia tohto závodu 40 000 ton bioetanolu. Tento bioetanol je distribuovaný po Európe a je určený na miešanie s benzínom. Maximálny ročný potenciál spracovania biomasy je 270 000 ton [48].

Používaná výrobná technológia nesie názov Proesa™ a vyvinula ju spoločnosť Biochemtex S.p.A. Jej vývoj začal v roku 2006 a už v roku 2009 bola otvorená poloprovozná realizácia. Celkovo vývoj trval 7 rokov a stál približne 150 miliónov eur [48].

Na výrobu bioetanolu spoločnosť využíva rôzne zvyšky z poľnohospodárskej produkcie a nekonzumovateľné plodiny s obsahom lignocelulózy. Príkladom využívaných plodín sú pšeničná slama, ryžová slama, alebo trst' rákosovitá [49].

V prvej fáze je materiál vystavený vysokej teplote a tlaku, čo umožňuje oddeliť celulózu a hemicelulózu od lignínu. Následne sú tieto polysacharidy spracované metódou simultánnej sacharifikácie a fermentácie, teda spojením enzymatickej hydrolýzy (použité sú enzýmy od spoločnosti Novozymes®) a fermentácie. Viac ako 50 % sacharidov obsiahnutých v zdrojovom materiáli má byť zužitkovaných. Nevyužitý lignín a bioplyn, ktorý vznikol počas procesov, sú použité na získavanie elektrickej energie a tepla [49].

Ako pozitíva charakterizujúce technológiu Proesa™ spoločnosť Biochemtex S.p.A. uvádza:

- maximálna flexibilita pri voľbe vstupných surovín,
- množstvo na výrobu jednej metrickej tony etanolu približne 4,5 – 5 ton suchej biomasy,
- nízka vstupná investícia vyplývajúca z jednoduchosti procesu,
- energia vyprodukovaná zo zvyškového lignínu úplne pokrýva energetické náklady na prevádzku,
- závod neprodukuje žiadnu odpadovú vodu,
- cenová konkurencieschopnosť vo svetovom meradle, aj bez potreby dotácií,
- náklady na výrobu bioetanolu približne 0,3 €/liter [48].

Spoločnosť GranBio v Brazílii taktiež využíva technológiu Proesa™. V ich továrni pracujúcej už od roku 2014 je ročne produkovaných 82 miliónov litrov bioetanolu [50].

Vo výstavbe sú už aj ďalšie závody na výrobu bioetanolu pomocou technológie Proesa™. V roku 2012 boli zahájené práce na výstavbe v Clintone, USA. Začiatok prevádzky sa odhaduje na prvý kvadrant roku 2016 a ročná produkcia má byť 75 miliónov litrov. V roku 2016 má tiež byť spustený závod v regióne Fuyand, v Číne, s ročnou produkčnou kapacitou bioetanolu 175 000 ton, či závod v Imperial Valley, v Kalifornii, s produkciou 25 miliónov litrov ročne [49].

Česká společnost Energochemica SE, plánuje v spolupráci so spoločnosťami Biochemtex S.p.A. a Beta Renewables S.p.A. postaviť závod aj v Slovenskej republike, v obci Strážske. Na pláne je ročná výroba 55 000 ton bioetanolu. Práce na projekte sa už rozbehli a spustenie je plánované na rok 2017 [51].

Spoločnosť DuPont<sup>®</sup>, ktorá začala výstavbu závodu v Iowe, USA, v roku 2012, sa pri výbere suroviny spolieha na zvýšenú produkciu kukurice v posledných 10 – 15 rokoch, z ktorej chce vďaka dohodám s poľnohospodármi zbierať a spracovávať zvyšky. V ich procesoch plánujú využívať enzýmy Accellerase<sup>®</sup>. Spoločnosť ráta s produkciou 113 miliónov litrov ročne [52].

## 7 DISKUSIA

Produkcia biopalív má určite svoje opodstatnenie, avšak jednostranné zameranie na produkciu biopalív prvej generácie, z dôvodov uvedených v práci, nie je tým úplne správnym riešením potreby diverzifikácie zdrojov kvapalných biopalív v budúcnosti [20].

Biopalivá vyrobené konverziou lignocelulózovej suroviny, takzvané biopalivá druhej generácie, majú v globálnom meradle oveľa vyšší potenciál, hlavne vďaka priaznivej cene a výbornej dostupnosti tejto suroviny. Veľkým pozitívom je možnosť využívania odpadových materiálov [20].

Tento fakt viedol k skúmaniu odpadového papiera, ako možného zdroja lignocelulózovej suroviny pre ich výrobu. Niektoré druhy papiera sa vyznačujú vysokým obsahom celulózy a nízkym obsahom lignínu. V rámci zastúpenia týchto polysacharidov sa najlepšie javí kancelársky papier. Kancelársky papier ale obsahuje veľké množstvo minerálnych plnív, ktoré komplikujú jeho využitie. S tým sa dá vysporiadať aplikovaním metódy demineralizácie, ktorou je možné koncentráciu plnív v papieri minimalizovať. V prípade spomínaného kancelárskeho papiera sa jednalo o veľmi markantné zníženie - z 30 % koncentrácie len na 1 %. Problémom je aj miešanie jednotlivých druhov papiera pri ich zbere. To zťažuje voľbu vhodných enzýmov, kvôli rôznorodosti materiálového zloženia. Možnosťou je separácia a využitie iba konkrétneho druhu papiera, prípadne analýza celkovej zmesi a následná voľba vhodného enzýmového aparátu [19].

Počiatočným, ale veľmi dôležitým krokom je výber vhodnej metódy predúpravy pre daný materiál. Predúprava má za cieľ zlepšiť prístupnosť k celulóze činidlám, aktívnym v nasledujúcom procese hydrolýzy, za čo možno najmenšieho negatívneho vplyvu, akým môže byť vznik inhibítorov, alebo negatívny dopad na životné prostredie [35].

Samotný proces hydrolýzy sa môže odohrávať s využitím chemických metód, alebo s využitím enzymatickej hydrolýzy. Hlavným nedostatkom chemických metód, ktoré využívajú kyseliny je značné znečistenie vody prítomnej v reakcii a nutnosť vysokých investícií do zariadení z nekorozívnych materiálov. Na druhej strane enzymatická hydrolýza je veľmi ekologický proces, pri ktorom nevznikajú žiadne škodlivé vedľajšie produkty, a je taktiež energeticky nenáročná [24],[25].

Z dôvodu vysokých cien kvalitných enzymatických preparátov, ktoré sú schopné priniesť požadované výťažky sacharidov, vyvstáva nutnosť skúmania metód, pri ktorých využití je s daným množstvom enzýmov možné dosiahnuť vyššie výťažky. Takými metódami sú napríklad metóda s vysokým dávkovaním substrátu, alebo simultánna sacharifikácia a fermentácia (SSF) [18],[45].

Princípom metódy s vysokým dávkovaním substrátu je zvýšenie pevného podielu v hydrolyzovanej zmesi, za úbytku podielu vody. To vedie k problémom s manipuláciou a miešaním substrátu, na ktoré je potrebné vynaložiť oveľa viac energie. Pre výsledný efekt je teda nutné mať k dispozícii ľahko miešateľný materiál. Takým môže byť napríklad odpadový papier, keďže je ho možné jednoducho rozomlieť na menšie kusy, ktoré absorbujú veľké množstvo vody, čím sa zníži šmykové napätie medzi časticami [31],[43].

Veľmi perspektívnou sa zdá byť simultánna sacharifikácia a fermentácia. Metóda vychádza zo zlúčenia enzymatickej hydrolýzy a fermentácie sacharidov do jedného reaktora. To vo výsledku znamená, že oba procesy zdieľajú počas ich priebehu rovnaké podmienky. Je

pravdou, že teploty potrebné na priebeh enzymatickej hydrolýzy, sú vyššie, v akých štandardne mikroorganizmy fermentujú sacharidy, avšak jednoduchým riešením je použitie termofilných kmeňov mikroorganizmov [18],[45].

Dôkazom vysokého potenciálu lignocelulózových materiálov a ich spracovania enzymatickou hydrolýzou je aplikácia v praxi. V posledných rokoch sa objavili aj komerčné realizácie. Väčšina z nich je stále vo výstavbe, rastúci trend výskytu takýchto závodov však ukazuje, že sa pre spoločnosti skutočne jedná o veľmi perspektívnu podnikateľskú oblasť. Prvé výsledky komerčného fungovania totiž hovoria o cenovej konkurencieschopnosti bioetanolu [48].

## 8 ZÁVER

Táto práca zhrnula vedomosti o hlavných krokoch procesu konverzie lignocelulóзовých materiálov na biopalivo. V Tabuľke 1 boli uvedené jednotlivé biopalivá, s ich zadelením do príslušnej generácie, zdrojom výrobnjej suroviny a ich klady a zápory. Boli zmienené všeobecné nevýhody produkcie biopalív prvej generácie a výhody palív generácie druhej.

V práci sú taktiež uvedené dôležité fakty o lignocelulóзовej surovine, jej zdrojoch a dostupných metódach predúpravy so zameraním na predúpravu odpadového papiera.

Prehľad metód hydrolýzy priniesol porovnanie chemických metód, využívajúcich kyseliny a popis metódy hydrolýzy ionickými kvapalinami, ktorá sa však javí byť vhodná skôr na predúpravu materiálu. Kapitola bola zameraná hlavne na enzymatickú hydrolýzu a činnosť komplexov enzýmov podieľajúcich sa na degradácii celulózy a hemicelulózy.

Ďalšia časť práce obsahovala charakteristiku niektorých v súčasnosti skúmaných a využívaných metód, ktoré sa podieľajú na zvyšovaní efektivity procesu konverzie na biopalivo, za použitia enzymatickej hydrolýzy. Z ich rozboru vyplýva, že pri správnej aplikácii skutočne majú potenciál zvýšenia výťažkov, čoho dôkazom je použitie napríklad metódy SSF v praxi na existujúcej komerčnej realizácii. Práve v súvislosti so simultánnou sacharifikáciou a fermentáciou a hľadaním riešenia pre správny priebeh procesu fermentácie sa jedna z podkapitol venovala termofilným mikroorganizmom. Táto téma načrtla možnosť spojenia enzymatickej hydrolýzy a fermentácie priamo s výrobou potrebných enzýmov v procese zvanom CBP, čo môže znížiť nemalé náklady na separátne získavanie enzýmov.

Cieľom práce bolo poukázať na vysoký potenciál lignocelulóзовých materiálov, potenciál hydrolýzy s využitím enzýmov a na priestor pre zvyšovanie výťažkov zavádzaním nových metód a technológií. Najlepším dôkazom perspektívy tejto metódy je jedna z posledných kapitol práce, venovaná rešerši komerčných realizácií pracujúcich na základe využitia najnovších poznatkov v danej problematike. Existencia plnoprevádzkových komerčných realizácií vyjadruje rast komerčného využitia enzymatickej hydrolýzy lignocelulóзовých materiálov pre tvorbu kvapalných biopalív.

## 9 ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] PASTOREK, Zdeněk, Jaroslav KÁRA a Petr JEVIČ. *Biomasa: obnoviteľný zdroj energie*. Praha: FCC Public, 2004, 286 s. ISBN 80-865-3406-5.
- [2] Dealing with indirect land use change. In: *EU biofuels policy* [online]. 2015 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: [http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2015/545726/EPRS\\_BRI\(2015\)545726\\_REV1\\_EN.pdf](http://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2015/545726/EPRS_BRI(2015)545726_REV1_EN.pdf)
- [3] Správa o používaní biozložiek v motorových palivách za rok 2011 v zmysle nariadenia vlády SR č. 246/2006 Z.z. *Podpora využívania biopalív v doprave*. 2013. Dostupné z: <http://www.economy.gov.sk/sprava-o-pouzivani-biozloziek-v-motorovych-palivach-za-rok-2013/144108s>
- [4] VAN EIJCK, Janske, Bothwell BATIDZIRAI a André FAAIJ. Current and future economic performance of first and second generation biofuels in developing countries. *Applied Energy* [online]. 2014, (vol. 135): 115-141 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.apenergy.2014.08.015. ISSN 03062619. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261914008186>
- [5] BRUMMER, Vladimír, Tomas JURENA, Viliam HLAVACEK, Jirina OMELKOVA, Ladislav BEBAR, Petr GABRIEL a Petr STEHLIK. Enzymatic hydrolysis of pretreated waste paper – Source of raw material for production of liquid biofuels. *Bioresource Technology* [online]. 2014, (vol. 152): 543-547 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.11.030. ISSN 09608524. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085241301746X>
- [6] MAITAN-ALFENAS, Gabriela Piccolo, Evan Michael VISSER a Valéria Monteze GUIMARÃES. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products. *Current Opinion in Food Science* [online]. 2015, (vol. 1): 44-49 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.cofs.2014.10.001. ISSN 22147993. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799314000101>
- [7] VERARDI, Alessandra, Isabella DE, Emanuele RICCA a Vincenza CALABR. Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass: Current Status of Processes and Technologies and Future Perspectives. *Bioethanol* [online]. InTech, 2012, (5) [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.5772/23987. ISBN 978-953-51-0008-9. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/bioethanol/hydrolysis-of-lignocellulosic-biomass-current-status-of-processes-and-technologies-and-future-perspe>
- [8] MUSSATTO, S. I. a J. A. TEIXEIRA. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* [online]. 2010, (VOL. 2): 897-907 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.formatex.info/microbiology2/897-907.pdf>
- [9] PALMQVIST, Eva a Bärbel HAHN-HÄGERDAL. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology* [online]. 2000, **74**(1): 25-33 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/S0960-8524(99)00161-3. ISSN 09608524. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852499001613>
- [10] HORVÁTHOVÁ, Viera, Andrej GODÁNY a Ernest ŠTURDÍK. Hydrolyza kukuričného škrobu rekombinantou termostabilnou  $\alpha$ -amylázou z *thermococcus hydrothermalis*. *Nova Biotechnologica* [online]. 2004, (4): 119-131 [cit. 2015-06-09].

- Dostupné z: [http://www.nbc-journal.fpv.ucm.sk/archive/revue\\_nova\\_biotechnologica\\_4\\_1/09\\_Horvathova.pdf](http://www.nbc-journal.fpv.ucm.sk/archive/revue_nova_biotechnologica_4_1/09_Horvathova.pdf)
- [11] Fermentace. *Bezpečnost potravin A-Z* [online]. [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92242.aspx>
- [12] The Central Role of Enzymes as Biological Catalysts. *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.* [online]. 2000, (2) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9921/>
- [13] STÖCKER, Michael. Biofuels and Biomass-To-Liquid Fuels in the Biorefinery: Catalytic Conversion of Lignocellulosic Biomass using Porous Materials. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2008, **47**(48): 9200-9211 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1002/anie.200801476. ISSN 14337851. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200801476>
- [14] BALAT, Mustafa, Havva BALAT a Cahide ÖZ. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science* [online]. 2008, **34**(5): 551-573 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.pecs.2007.11.001. ISSN 03601285. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360128507000706>
- [15] Možnosti energetického využití biomasy. In: *Možnosti energetického využití biomasy: ukázka praktických opatření z Akčního plánu pro biomasu v ČR na období 2012-2020* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2013 [cit. 2015-06-08]. ISBN 978-80-7434-122-9. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/file/283371/Moznosti\\_energetickeho\\_vyuziti\\_biomasy.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/283371/Moznosti_energetickeho_vyuziti_biomasy.pdf)
- [16] ZÁRYBNICKÁ, Michaela. Biomasa - Obnovitelný zdroj energie. *Biomasa - Obnovitelný zdroj energie* [online]. (1) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: [http://kke.zcu.cz/old\\_web/\\_files/projekty/enazp/13/IUT/063\\_Biomasa\\_-\\_Obnovitelný\\_zdroj\\_energie\\_-\\_Zarybnicka\\_-\\_P1.pdf](http://kke.zcu.cz/old_web/_files/projekty/enazp/13/IUT/063_Biomasa_-_Obnovitelný_zdroj_energie_-_Zarybnicka_-_P1.pdf)
- [17] IDI, Ahmad a Shaza Eva MOHAMAD. Bioethanol from second generation feedstock (Lignocellulose biomass). *Interdisciplinary journal of contemporary research in business* [online]. 2011, (VOL 3, NO 8) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.journal-archieves13.webs.com/919-935.pdf>
- [18] OLOFSSON, Kim, Magnus BERTILSSON a Gunnar LIDÉN. A short review on SSF – an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels* [online]. 2008, **1**(1): 7- [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1186/1754-6834-1-7. ISSN 1754-6834. Dostupné z: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/1/1/7>
- [19] IOELOVICH, Michael. Waste Paper as Promising Feedstock for Production of Biofuel. *Journal of Scientific Research and Reports* [online]. 2014, **3**(7): 905-916 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.9734/JSRR/2014/8025. ISSN 23200227. Dostupné z: <http://www.sciencedomain.org/abstract.php?iid=441>
- [20] NIGAM, Poonam Singh a Anoop SINGH. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science* [online]. 2011, **37**(1): 52-68 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.pecs.2010.01.003. ISSN 03601285. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360128510000353>
- [21] Types Of Biofuel. *Biofuels - The fuel of the future* [online]. 2010 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://biofuel.org.uk/types-of-biofuels.html>

- [22] NAIK, S.N., Vaibhav V. GOUD, Prasant K. ROUT a Ajay K. DALAI. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [online]. 2010, **14**(2): 578-597 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.003. ISSN 13640321. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032109002342>
- [23] MILBRANDT, Anelia a Ralph P. OVEREND. The Future of Liquid Biofuels for APEC Economies. *The Future of Liquid Biofuels for APEC Economies* [online]. 2008, (1) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.nrel.gov/docs/fy08osti/43709.pdf>
- [24] PANDEY, Ashok. *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes* [online]. 1st ed. Burlington, MA: Academic Press, 2011, 229-250 [cit. 2015-06-08]. ISBN 01-238-5099-1. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/227414108\\_Provided\\_for\\_Hydrolysis\\_of\\_Lignocellulosic\\_Biomass\\_for\\_Bioethanol\\_Production](https://www.researchgate.net/publication/227414108_Provided_for_Hydrolysis_of_Lignocellulosic_Biomass_for_Bioethanol_Production)
- [25] TAHERZADEH, Mohammad J. a Keikhosro KARIMI. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *BioResources* [online]. 2007, (Vol 2, No 3) [cit. 2015-06-08]. Dostupné z: [https://www.ncsu.edu/bioresources/BioRes\\_02/BioRes\\_02\\_3\\_472\\_499\\_Taherzadeh\\_K\\_BioEthanol\\_Review.pdf](https://www.ncsu.edu/bioresources/BioRes_02/BioRes_02_3_472_499_Taherzadeh_K_BioEthanol_Review.pdf)
- [26] LENIHAN, P., A. OROZCO, E. O'NEILL, M.N.M. AHMAD, D.W. ROONEY a G.M. WALKER. Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2010, **156**(2): 395-403 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.cej.2009.10.061. ISSN 13858947. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894709007542>
- [27] BRODER, J.D., J.W. BARRIER, K.P. LEE a M.M. BULLS. Biofuels system economics. *World Resource Review* [online]. 1995, (Volume: 7; Issue: 4) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.osti.gov/scitech/biblio/182917>
- [28] BINDER, J. B. a R. T. RAINES. Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2010, **107**(10): 4516-4521 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1073/pnas.0912073107. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0912073107>
- [29] Biotechnology: A multi volume comprehensive treatise. Ed. by H.-J. Rehm and G. Reed. 2nd completely rev. edition. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo : VCH, 1996. 739 s. ISBN 3-527-28310-2.
- [30] IRANMAHBOOB, Jamshid, Farhad NADIM a Sharareh MONEMI. Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips. *Biomass and Bioenergy* [online]. 2002, **22**(5): 401-404 [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1016/S0961-9534(02)00016-8. ISSN 09619534. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953402000168>
- [31] MODENBACH, Alicia A. a Sue E. NOKES. Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings – A review. *Biomass and Bioenergy* [online]. 2013, (vol. 56): 526-544 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.biombioe.2013.05.031. ISSN 09619534. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953413002948>
- [32] SUN, Ye a Jiayang CHENG. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* [online]. 2002, **83**(1): 1-11 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00212-7. ISSN 09608524. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852401002127>

- [33] JUHÁSZ, T., Z. SZENGYEL, K. RÉCZEY, M. SIIKA-AHO a L. VIKARI. Characterization of cellulases and hemicellulases produced by *Trichoderma reesei* on various carbon sources. *Process Biochemistry* [online]. 2005, **40**(11): 3519-3525 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.procbio.2005.03.057. ISSN 13595113. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511305002035>
- [34] ZHANG, Junhua, Matti SIIKA-AHO, Maija TENKANEN a Liisa VIKARI. The role of acetyl xylan esterase in the solubilization of xylan and enzymatic hydrolysis of wheat straw and giant reed. *Biotechnology for Biofuels* [online]. 2011, **4**(1): 60- [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1186/1754-6834-4-60. ISSN 1754-6834. Dostupné z: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/4/1/60>
- [35] KUMAR, Parveen, Diane M. BARRETT, Michael J. DELWICHE a Pieter STROEVE. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial* [online]. 2009, **48**(8): 3713-3729 [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1021/ie801542g. ISSN 0888-5885. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie801542g>
- [36] LEPAŘ, P. Enzymatická hydrolyza odpadní papíroviny – zdroj suroviny pro výrobu kapalných biopaliv. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 77 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Petr Gabriel.
- [37] KOKRHELOVÁ, Květoslava a Tomáš JIROUT. *Enzymatická hydrolyza lignocelulóзовých plodin a odpadů pro výrobu biopaliv* [online]. 2008 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: [http://stc.fs.cvut.cz/history/2008/sbornik/Papers/S2/Kokrhelova\\_Kvetoslava\\_12118.pdf](http://stc.fs.cvut.cz/history/2008/sbornik/Papers/S2/Kokrhelova_Kvetoslava_12118.pdf)
- [38] TAHERZADEH, Mohammad J. a Keikhosro KARIMI. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2008, **9**(9): 1621-1651 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.3390/ijms9091621. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/9/9/1621/>
- [39] KIM, Hyeon Jeong, Jeong Ho CHANG, Bong-Yong JEONG a Jin Hyung LEE. Comparison of Milling Modes as a Pretreatment Method for Cellulosic Biofuel Production. *Journal of Clean Energy Technologies* [online]. 2013, (Vol. 1, No. 1): 45-48 [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.7763/JOCET.2013.V1.11. ISSN 1793821x. Dostupné z: <http://www.jocet.org/show-7-271-1.html>
- [40] KRÁTKÝ, Lukáš. *Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv* [online]. 2010 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf>
- [41] ISAKSSONA, Johan, Anders ÅSBLADB a Thore BERNTSSONA. Influence of Different Pretreatment Methods on Biomass Gasification and Production of Fischer-Tropsch Crude Integrated with a Pulp and Paper Mill. *The Italian Association of Chemical Engineering* [online]. 2013, (VOL. 35) [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.aidic.it/cet/13/35/093.pdf>
- [42] HUTŇAN, Miroslav (ed.) a Igor BODÍK. *Produkcia bioplynu, pyrolýza a splyňovanie - efektívny spôsob zhodnotenia biomasy ako obnoviteľného zdroja energie* [online]. 2010 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://kchbi.chtf.stuba.sk/cevoze/doc/pod6/Zbornik%20komplet%20zamknuty.pdf>
- [43] WANG, Lei, Mahdi SHARIFZADEH, Richard TEMPLER a Richard J. MURPHY. Bioethanol production from various waste papers: Economic feasibility and sensitivity analysis. *Applied Energy* [online]. 2013, (vol. 111): 1172-1182 [cit. 2015-06-08]. DOI:

- 10.1016/j.apenergy.2012.08.048. ISSN 03062619. Dostupné z:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261912006356>
- [44] CHEN, Hongzhang. *Biotechnology of lignocellulose: theory and practice*. Beijing: Chemical Industry Press, 2014, xviii, 510 pages. ISBN 71-221-8975-9.
- [45] HASUNUMA, Tomohisa a Akihiko KONDO. Consolidated bioprocessing and simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose to ethanol with thermotolerant yeast strains. *Process Biochemistry* [online]. 2012, **47**(9): 1287-1294 [cit. 2015-06-08]. DOI: 10.1016/j.procbio.2012.05.004. ISSN 13595113. Dostupné z:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511312001845>
- [46] BLUMER-SCHUETTE, Sara E., Steven D. BROWN, Kyle B. SANDER, Edward A. BAYER, Irina KATAEVA, Jeffrey V. ZURAWSKI, Jonathan M. CONWAY, Michael W. W. ADAMS a Robert M. KELLY. Thermophilic lignocellulose deconstruction. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2014, **38**(3): 393-448 [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1111/1574-6976.12044. ISSN 01686445. Dostupné z:  
<http://femsre.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1111/1574-6976.12044>
- [47] KHELIL, Omar a Benamar CHEBA. Thermophilic Cellulolytic Microorganisms from Western Algerian Sources: Promising Isolates for Cellulosic Biomass Recycling. *Procedia Technology* [online]. 2014, (vol. 12): 519-528 [cit. 2015-06-09]. DOI: 10.1016/j.protec.2013.12.524. ISSN 22120173. Dostupné z:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212017313007093>
- [48] Cellulosic Ethanol Proesa™. *Biochemex* [online]. 2013 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.biochemtex.com/>
- [49] Beta Renewables. *Beta Renewables* [online]. 2013 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.betarenewables.com/>
- [50] GRANBIO. *GranBio* [online]. 2014 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.granbio.com.br/>
- [51] Spoločnosť ENERGOCHÉMICA SE podpísala s talianskymi spoločnosťami BIOCHEMTEX A BETA RENEWABLES zmluvu o výstavbe závodu druhej generácie na výrobu etanolu. In: *Energochemica* [online]. 2014 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://www.energochemica.eu/data/files/Vyhlasenie-Biorafineria-SVK%20-%20k%C3%B3pia.pdf>
- [52] BIOFUELS DUPONT. *DuPont* [online]. 2014 [cit. 2015-06-09]. Dostupné z: <http://biofuels.dupont.com/>

## 10 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

**ABE** – acetón–butanol–etanol

**AFEX** – ammonia fiber explosion - explózia čpavkových pár

**CBP** – consolidated bioprocessing

**DM** – demineralizovaný materiál

**FAME** – fatty acid methyl ester – metylester mastných kyselín

**min** – minúta

**ot** – otáčky

**PŠ** – počiatočné štádium

**SHF** – separate hydrolysis and fermentation - separátna hydrolyza a fermentácia

**SSF** – simultaneous saccharification and fermentation - simultánna sacharifikácia a fermentácia

## 11 ZOZNAM OBRÁZKOV

<i>Obr. 1 Ilustračné usporiadanie jednotlivých polymérov v lignocelulózovej štruktúre [8].....</i>	<i>14</i>
<i>Obr. 2 Schematické znázornenie priebehu procesu výroby kvapalného biopaliva enzymatickou hydrolýzou [31] .....</i>	<i>20</i>
<i>Obr. 3 Mechanizmus pôsobenia celuláz [24] .....</i>	<i>21</i>
<i>Obr. 4 Znázornenie významu predúpravy lignocelulózového materiálu [35] .....</i>	<i>23</i>
<i>Obr. 5 Schéma využitia zvyškových vedľajších produktov v papierenskom priemysle (PŠ značí počiatočné štádium) [19] .....</i>	<i>27</i>
<i>Obr. 6 Schéma priebehov procesov SHF, SSF a CBP [46].....</i>	<i>30</i>

## 12 ZOZNAM TABULIEK

Tab. 1 Prehľad zdrojov lignocelulózovej suroviny a zastúpenie celulózy, hemicelulózy, a lignínu v daných materiáloch [17] .....	15
Tab. 2 Prehľad palív prvej a druhej generácie [23] .....	17
Tab. 3 Porovnanie metód chemickej hydrolýzy kyselinami [25] .....	18
Tab. 4 Porovnanie zloženia rôznych druhov papiera v počiatočnom štádiu (PŠ) a po demineralizácií (DM) [19].....	27
Tab. 5 Porovnanie výťažkov sacharidov metódou s vysokým dávkovaním substrátu [43].....	28